

DH5 α F'lq Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: DL1006)

DH5 α F'lq Competent Cell	100 μ l /支
pUC19 (control vector, 10pg/ μ l)	10 μ l
保存条件 (保质期):	-80 $^{\circ}$ C (6个月)

● 基因型

F'proA+B+ lacI_q Δ (lacZ)M15 zcf::Tn10 (Tet^R) / fhuA2 Δ (argF-lacZ)U169 phoA glnV44 ϕ 80 Δ (lacZ) M15 gyrA96 recA1 endA1 thi-1 hsdR17

● 产品说明

DH5 α F'lq 来源于 DH5 α , 是 DH5 α 衍生菌株。将 lacI_q 突变形式通过 F 因子转入 DH5 α 中, 使其能够克隆毒性基因。缺失核酸内切酶 (*endA*), 提高了质粒 DNA 的产量和质量; 重组酶缺陷型 (*recA*) 减少插入片段的同源重组概率, 保证了插入 DNA 的稳定性; lacZ Δ M15 的存在使 DH5 α F'lq 可用于蓝、白斑筛选; fhuA2 突变使其可以抗 T1 噬菌体; F 因子赋予 DH5 α F'lq 菌株能够被噬菌体 M13 感染的能力。DH5 α F'lq 感受态细胞经特殊工艺制作, pUC19 质粒 (2686bp, Amp^R) 检测转化效率 > 1 \times 10⁹ cfu/ μ g DNA。

● 经典热激转化操作方法

1. DH5 α F'lq 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出, 迅速插入冰中, 3-5 分钟后待菌块融化(融化一半即可使用), 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打), 冰中静置 25 分钟。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 秒, 迅速放回冰上并静置 2 分钟, 晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μ l 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB), 混匀后 37 $^{\circ}$ C, 200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体, 留取 100 μ l 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。
5. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养至少 15 h。

● 快速转化操作方法 (10min 完成)

1. 提前 15 分钟将用到的筛选培养基平板拿到 37 $^{\circ}$ C 预热。
2. DH5 α F'lq 感受态细胞从 -80 $^{\circ}$ C 拿出, 迅速插入冰中, 3-5 分钟后待菌块融化(融化一半即可使用), 加入目的 DNA (质粒或连接产物) 并用手拨打 EP 管底轻轻混匀, 冰中静置 \geq 5 分钟 (5-90min 均可)。
3. 用 200ul 枪将感受态细胞-DNA 混合物转移到已经 37 $^{\circ}$ C 预热的 LB 培养基上, 涂均匀, 表面无水渍。
4. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作, 将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养至少 15h。

注意：DH5 α F'Iq 即可用热激方法转化也可以用快转方法转化，用快速转化方法涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高，涂卡那霉素或其他抗生素平板时，转化效率下降(因无孵育步骤，卡那霉素等对菌体毒性较大)。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率，可增加孵育步骤：37 度孵育 30-60min。

● 快速热激转化操作方法 (25min 完成，可提高转化效率)

1. DH5 α F'Iq 感受态细胞从-80 $^{\circ}$ C 拿出，迅速插入冰中，3-5 分钟待菌块融化(融化一半即可使用)，加入目的 DNA (质粒或连接产物)并用手拨打 EP 管底混匀，冰中静置 5 分钟。
2. 42 $^{\circ}$ C 水浴热激 45 秒，迅速放回冰中并静置 2 分钟 (晃动会降低转化效率)。加入 700 μ l 不含抗生素的 LB，37 $^{\circ}$ C，200 rpm 复苏 10 分钟，涂板 (均匀，表面无水渍)。
3. 将平板倒置放于 37 $^{\circ}$ C 培养箱过夜培养。如果进行蓝白斑筛选操作，将平板放 37 $^{\circ}$ C 培养至少 15h。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. DH5 α F'Iq 即可用热激方法转化也可以用快转方法转化，用快速转化方法涂氨苄/羧苄青霉素抗性平板时效率较高，涂卡那霉素或其他抗生素平板时，转化效率下降(因无孵育步骤，卡那霉素等对菌体毒性较大)。若要提高卡那霉素或其他抗性质粒的转化效率，可增加孵育步骤：37 度孵育 30-60min。
3. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 若要获得大量，高纯度质粒，建议在 TB 培养基 (唯地 CAT#: CM1018L) 中摇菌培养 (以标准质粒 PUC19 为例：在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍，SOC 的 2 倍)